

**402****PADRONIZAÇÃO DE MÉTODO DE IMUNODETECCÃO EM CÉLULAS SH-SY5Y DIFERENCIADAS PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA FOSFATASE HOMÓLOGA A TENSINA (PTEN)**

André Vinícius Contri Paz, Bianca Wollenhaupt de Aguiar, Clarissa Severino Gama. Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)

A via PI3K/Akt é responsável pela regulação de vários processos celulares, tais como plasticidade e sobrevivência neuronal, e está altamente relacionada ao Transtorno de Humor Bipolar (THB). O valproato (VPA), um dos principais fármacos utilizados no tratamento do THB, é capaz de modular esta via, porém os mecanismos responsáveis permanecem desconhecidos. A principal proteína que regula esta via é a fosfatase homóloga a tensina (PTEN). Nossa hipótese é que o VPA esteja modulando a via da PI3K/Akt através da PTEN. O objetivo principal deste trabalho é padronizar uma técnica de imunodeteccão (Western blot) para avaliar a atividade da PTEN em células SH-SY5Y diferenciadas em neurônios dopaminérgicos, com o objetivo secundário de avaliar se o VPA é capaz de modular sua atividade. Definimos uma curva de dose-resposta do VPA em células SH-SY5Y diferenciadas com doses entre 50 e 1000 µg/mL por 24 horas através da técnica de MTT. Após a dose ideal ser definida, foi realizado Western blot da PTEN para ver os efeitos do VPA sobre sua atividade, calculada pela razão entre PTEN total e PTEN fosforilada. Como controle endógeno foi utilizado a β-actina. A técnica de Western blot foi padronizada com sucesso, sendo possível identificar PTEN total, fosforilada e β-actina nas diluições de anticorpo primário de 1:1000, 1:10000 e 1:20000, respectivamente. A diluição do anticorpo secundário foi padronizada em 1:20000. O tempo de eletroforese foi padronizado em 50 minutos, a transferência em 3 horas e o bloqueio em 1,5 horas. A curva de dose-resposta do VPA mostrou que a dose de 100 µg/mL seria a mais adequada, uma vez que além de não reduzir a viabilidade celular, encontra-se na faixa terapêutica para o tratamento de episódios maníacos do THB. O VPA foi capaz de induzir a inibição da atividade da PTEN ( $p=0,043$ ). Este é o primeiro estudo a mostrar que o VPA é capaz de modular a atividade da PTEN, de forma que pode explicar ao menos em parte como o VPA modula a atividade da via PI3K/Akt. Além disso, nosso resultado sugere que a PTEN pode ser um novo alvo farmacológico para o tratamento do THB. Palavra-chave: Transtorno de Humor Bipolar; PTEN; Valproato.